

平成 22 年 5 月 28 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19380121

研究課題名（和文） ゼロエミッション養殖構築の為の飼料開発に関する基礎的研究

研究課題名（英文） Studies on the feed development for construction of zero emission aquaculture

研究代表者

佐藤 秀一（SATO SHUICHI）

東京海洋大学・海洋科学部・教授

研究者番号：80154053

研究成果の概要（和文）：環境への窒素とリン負荷および加工残滓を低減させるゼロエミッション養殖構築の為の飼料の開発をめざした。クエン酸等の有機酸を飼料へ添加することにより、主な原料である魚粉中のリンの利用性を改善させ、リンの排泄量を低減させることができた。さらにリン含量の低い植物性飼料原料を配合することにより、さらにリンの排泄量を低減することに成功した。また、遺伝子組換え植物性原料の利用性と安全性を数種の魚類で検討した結果、非組換えのものと同等の利用性を示し、安全性も問題がないものと確認した。さらに、水産加工残滓を利用した養魚用飼料原料を開発し、その利用性も確認した。以上、リンの少ない植物飼料原料さらには養殖魚の加工残滓の有効利用を検討することが重要と考えられる。

研究成果の概要（英文）：This project was conducted to develop the aquafeed which reduces excretion of nitrogen and phosphorus to ambient water of aquaculture and enable to construct zero-emission aquaculture. Supplementation with organic acid such as citric acid to aquafeed could reduce phosphorus excretion by improving availability of phosphorus derived from fish meal. Furthermore, formulation with lower phosphorus ingredients like plant protein ingredient enabled to reduce excretion of phosphorus. And defatted meal from genetically modified soybean showed similar availability to non-genetically modified soybean and it was considered safe in several fish species. Development of new ingredient using residue from fish processing was succeeded to show high availability in aquafeed. This project demonstrated that it is important to utilize plant protein ingredient with lower phosphorus and residue from fish processing properly.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	5,700,000	1,710,000	7,410,000
2008年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2009年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
年度			
年度			
総計	14,900,000	4,470,000	19,370,000

研究分野：魚類栄養学

科研費の分科・細目：水産学・水産化学

キーワード：養魚飼料，ゼロエミッション，遺伝子組換え飼料原料，水産加工残滓

1. 研究開始当初の背景

現在、日本の各産業では、ゼロエミッション化が図られ、資源の有効利用が盛んに行われている。我が国の水産養殖においても、同様にゼロエミッション化が図られている。その一つは、養殖魚自体から排泄されるものを低減すること。もう一つは、生産された養殖魚を加工した後の残滓の利用拡大である。日本の海面養殖で用いられる餌飼料は、生餌からエクストルーダー等によるドライペレット等の固形飼料への転換が急速に進みつつある。このことにより、以前に比較し養殖漁場は生餌の残餌による汚染が低減し、格段にきれいになっている。しかしながら、多くの養殖海域においては有機物が堆積し、全国的に養殖環境の悪化がみられる。現在、魚粉を主なタンパク源とした飼料で魚類を飼育した場合には、飼料由来の窒素およびリンが、魚体へはそれぞれ35および30%しか蓄積されないこと、それ以外の窒素とリンは環境へ負荷されていることが報告されている。また、生産された養殖魚は、加工場でその約70%が可食部となり、残りの30%は産業廃棄物として捨てられるか、発酵等の処理をした後に、肥料として利用されるだけである。ところが、これらの残滓には、高栄養のタンパク質と脂肪が豊富に含まれている。しかしながら、それを有効に利用していないのが、現状である。養殖魚自体から、窒素やリンの排泄を低減させるためには、魚自体へのリンや窒素の蓄積率を高めることと飼料中の魚粉の配合率を下げ、リン等の含量が低い植物性の飼料原料を配合することが有効である。魚粉に代わるタンパク源である大豆やトウモロコシの中で、現在飼料原料として流通されているもののほとんどは、遺伝子組換え作物が含まれている無分別のものであり、これらの安全性については、確認されていない。遺伝子組換え作物を含まないものは生産量が限られ、入手に困難であるため、遺伝子組換え飼料原料の安全性・利用性の検証が必要である。

2. 研究の目的

養殖漁場等の海洋環境への窒素とリン負荷の低減と陸上での廃棄物をできるだけ低減させるゼロエミッション養殖構築の為の飼料の開発をめざす。このためには、成長が早くリンや窒素の蓄積率が高い魚の育種技術、リンの少ない植物飼料原料および魚油代替油脂の魚類に対する利用性および安全性、さらには養殖魚の加工残滓の有効利用を検討することが重要と考えられる。養殖生産量の高いブリ、マダイ、ニジマス、コイを対象魚種として、新しい植物性飼料原料の探索、養殖魚の加工残滓を原料とした魚粉、遺伝子組換え大豆を含む大豆油粕およびコーン

グルテンミール等の安全性と利用性を詳細に検討する。このように、陸上を含めた環境への負荷物質の排泄低減、有害物質を含まない養殖魚育成用飼料の開発とその飼料にあった養殖魚の作出等に必要基礎知見の総合的集積を目的とした。

3. 研究の方法

ゼロエミッション型養殖の為の飼料開発には、養殖魚から排泄される環境負荷物質(窒素とリン)の量の低減が重要である。そのためには、リン等の環境負荷物質を高い割合で含まない飼料原料の利用が大切である。また、養魚飼料の主要な原料である魚粉に含まれているリンの利用性の向上も図るべきである。さらに、生産された養殖魚の加工処理した残滓の利用も、ゼロエミッション型養殖に欠かせない要素となる。そこで、以下の実験を行う。

- (1) リンの排泄を減少させるためには、飼料に用いる低リンの原料が重要となるが、大豆油粕以外のもの、すなわち、コーングルテンミール、ルーピンミール、ポテトプロテイン等の植物性原料について、ニジマス、コイ、マダイを用いてその利用性を検討した。(佐藤)
- (2) ゼロエミッション飼料の主な飼料原料となる大豆油粕は、現在では遺伝子組換え作物由来のものが多くなっている。そこで、その安全性および利用性を主要な養殖魚であるコイ、ティラピアについて、遺伝子組換え大豆を配合した飼料を給餌する。飼育期間中の魚の成長および生残率を測定するとともに、飼料から、筋肉、腸、軟骨等への組換え遺伝子断片の移行をPCRおよび*in situ* hybridizationを用いて、分析する。(佐藤、芳賀)
- (3) リンの排泄を低減するためには、植物性飼料原料の配合率を高めることが重要と考えられるが、それに伴い、主要な原料であった魚粉の配合率を低下する必要がある。この魚粉には、養殖魚への必要なリンの供給源にもなっており、魚粉低減化により、リン不足になる懸念もある。そこで、魚粉に含まれるリンの利用性を向上させるために、クエン酸等の有機酸添加によるリンの利用性向上を試みる。(佐藤)
- (4) 窒素やリン等の排泄を低減させる為には、

養魚飼料中のカロリー含量を増加させ、タンパク質節約効果を促し、タンパク質の利用性を向上させることによって、窒素の排泄を軽減させることが必要であり、飼料の脂質含量を高めることが有効であるという知見が、申請者らの研究で実証された。しかしながら、配合する油脂、特に魚油によってはダイオキシン類の混入が指摘されている。そこで、魚油と植物油（パームオレイン）と種々の割合で配合し、ニジマスを対象魚として、魚油代替の影響を検討する。さらにダイオキシン類の蓄積等についても検討した。（佐藤、竹内）

- (5) 次に、マダイを対象とし、魚油と植物油（ナタネ油）を種々の割合で配合し、魚油代替の影響を検討する。（佐藤、竹内）
- (6) 水産加工残滓から作られる残滓ミール、さらにそれを乳酸発酵させた発酵ミールを用い、ニジマスおよびマハタにおける有効性を検討する。（佐藤、芳賀）
- (7) 上記の通り、リンの排泄を減少させるためには、リン含量の低い植物性原料が有効であるが、これらを多量に配合すると海水魚では、タウリン欠乏が生じると報告されている。そこで、低魚粉飼料におけるタウリンの添加効果について、ブリおよびマダイで検討する。（佐藤、竹内）
- (8) 水産加工残滓と大豆油粕から調製した残滓ミール、さらにそれを乳酸発酵させた発酵ミールを用い、ニジマス、マダイおよびマハタにおける有効性を検討する。（佐藤、芳賀）

4. 研究成果

- (1) ゼロエミッション型養殖の為の飼料開発には、まず、リン等の環境負荷物質の低減が重要である。そのためには、魚粉以外のリン含量の低い原料を飼料に配合することが有効であると考えられる。そこで、魚粉以外の有効な植物性飼料原料である大豆油粕の養殖対象魚種における利用性ならびに遺伝子組み換え作物由来の原料について、その利用性ならびに安全性を検討した。

- ① リン含量低い原料としては大豆油粕が最も有効であると考えられる。しかしながら、現在栽培されている大豆の多くは、遺伝子組換えのものが多くなっている。そこで、遺伝子組換え大豆由来の油粕の安全性および利用性を主要な養殖魚であるティラピアを用いて検討した。その結果、非組換えものと同等の利用性を示した。また、組換え遺伝子の断片がティラピアにおいて、確認されたが、非組換えのものを給餌すると

消失し、蓄積しないものと示唆された。したがって、遺伝子組換え由来の大豆油粕は安全であり、その利用性も高いと推察された。

- ② さらに、コイを用いて同様の実験を行なった結果、遺伝子組換えの大豆由来の油粕は、非組換えの大豆由来ものと同等の利用性を示すとともに、コイにおいては組換え遺伝子断片が確認されなかった。以上より、コイにおいては、遺伝子組換え由来の大豆油粕は安全であり、その利用性は高いものと示唆された。
 - ③ また、以前、ニジマスにおいて同等の試験を実施した際に、遺伝子組換え原料中の組換え遺伝子断片が一定期間確認されたことより、外来遺伝子の魚類における残存期間をニジマスおよびティラピアを用いて、検討した。遺伝子組換え大豆を配合した飼料を給餌し、飼料から、筋肉、血液、肝臓等への組換え遺伝子断片の移行をPCRを用いて、分析した。その結果、極僅かなプロモーター断片が筋肉および血液に確認される個体も存在するが、数日間でその存在は認められなかった。一方、大豆由来の葉緑素の遺伝子も各組織に残存することが確認された。このことより、外来遺伝は一定の期間、魚類の体内に留まり、その後、消出するものと推察された。

- (2) 魚粉は養魚飼料においては主要なタンパク質であるとともに、リンの供給源となっている。しかしながら、魚粉由来のリンの吸収率は50%程度と低い。ゼロエミッション対応型の養魚飼料では魚粉の配合量を低減することより、魚粉由来のリンが少なくなり、養殖魚に必要なリンの供給ができなくすることも懸念される。そこで、魚粉に含まれるリンの利用性を向上させるために、クエン酸、リンゴ酸、酢酸、ギ酸等の有機酸の添加効果を検討した。その結果、クエン酸を添加することによりニジマス、マダイ、ブリにおいて、リンの利用性が向上し、リン不足にならない飼料の開発が可能となった。また、クエン酸の添加量としては、飼料のpHが5.5程度に調整すると最も効果のあることも、明らかとなった。
- (3) 養殖魚の加工残滓を有効利用することはゼロエミッション型養殖を構築するためにはなくてはならないプロセスである。そこで、まず一般の水産加工残滓を材料とし、養魚飼料への利用性を

検討した。

- ① 水産加工残滓と大豆油粕を混合して作製したミールおよびそのミールを発酵処理したもの作製し、それらで魚粉を代替したニジマス用飼料を用いて、その有効性を検討した。その結果、ミールそのものを配合した飼料では、僅かながら成長は劣ったが、発酵したものを配合した飼料では魚粉のみを配合したものと同等の結果が得られた。
 - ② 水産加工残滓と大豆油粕から調製した残滓ミール、さらにそれを乳酸発酵させた発酵ミールを用い、マダイにおける有効性を検討した。その結果、水産加工残滓の種類と発酵方法により、魚粉と同等の結果が得られることがわかった。これにより、養殖魚の加工残滓も十分に飼料原料となりうることが示唆された。
- (4) 低魚粉飼料におけるタウリンの添加効果について、ブリおよびマダイで検討する。その結果、ブリでは魚粉を30%まで配合した飼料では、魚が活発に摂餌をしていれば、タウリンの添加しなくても、魚粉飼料と同等の成長が得られることがわかった。一方、魚粉を20%まで減少させると成長が低下するが、タウリンを添加することで、魚粉飼料と同等の成長が得られることが明らかとなった。一方、マダイ稚魚では、ブリと同様に魚粉が20%飼料で飼育すると成長が低下する。その飼料へタウリンを添加すると成長は改善するが、魚粉飼料と同等までには改善しなかった。さらに、タンパク質分解酵素やフィチン分解酵素を添加すると魚粉主体飼料と同等の飼育成績が得られた。これらのことよりタウリンおよび消化酵素の添加が低魚粉飼料に有効なことが明らかとなった。
- (5) 窒素やリン等の排泄を低減させるためには、養魚飼料中のカロリー含量を増加させ、タンパク質節約効果を促し、タンパク質の利用性を向上させることによって、窒素の排泄を軽減させることが必要であり、飼料の脂質含量を高めることが有効である。しかしながら、配合する油脂、特に魚油によってはダイオキシン類の混入が指摘されている。そこで、魚油と植物油（パームオレイン）と種々の割合で配合し、ニジマスを対象魚として、魚油代替の影響を検討した。その結果、パームオレインで、魚油を完全に代替すると成長が劣る傾向がみられた。また、魚体に蓄積するダイオキシン類は飼料に含まれるものに影響され、パームオレインで代替する

に伴い、ダイオキシン類の魚体含量が低下した。また、ダイオキシン含量の低い飼料を給餌することで、魚体に蓄積したダイオキシン類を低下させることもわかった。また、同様の試験をナタネ油により、魚油を代替し、マダイを用いて行った。その結果、魚油の約半分をナタネ油で代替できることがわかった。それ以上代替すると、成長に影響を及ぼすものと推察された。

以上のことより、魚粉、魚油の配合量を適切に植物性原料により代替することにより、ゼロエミッション型養殖用の飼料を開発できるという基礎的な知見が得られた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 13 件)

- ① 柳野元秀, 長野泰三, 佐藤秀一, 白鳥 勝, 植田 豊(ブリ養殖現場で確認した低魚粉飼料へのタウリン添加効果), 水産増殖 査読有, 57, 2009, 595-600
- ② Suharman I., Satoh S., Haga Y., Takeuchi T., M.Endo, Hirono I., and Aoki T., Utilization of genetically modified soybean meal in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* diet, Fisheries Science, 査読有, 75, 2009, 967-973,
- ③ Chainark P., Satoh S., Hirono I., Aoki T., and Endo M. Availability of genetically modified feed ingredient II – Investigations of ingested foreign DNA in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, Fisheries Science, 査読有, 74(2), 2008, 380-390
- ④ I.Suharman, S.Satoh, Y.Haga, I.Hirono, and T.Aoki Suitability of genetically modified soybean meal in dietary ingredient for common carp, *Cyprinus carpio* Fisheries Science, 査読有, 76(1), 2010, 111-117,
- ⑤ Md. S. A. Sarker, S. Satoh, S. Matsumoto, S. Sasaki, H. Miyashita, V. Kiron, Y. Yamamoto and T. Miyazaki Effect of dietary supplementation of citric acid and amino acid-chelated trace elements on growth and excretion of nitrogen and phosphorus in young yellowtail, *Seriola quinqueradiata* Aquaculture Science, 査読有, 57(3), 2009, 389-397,

- ⑥ Md.S.A.Sarker, S.Satoh, Y.Yamamoto, K.Satoh, and V.Kiron Effects of dietary phosphorus supplementation on growth and excretion of nitrogen and phosphorus by growing yellowtail *Seriola quinqueradiata*, *Aquaculture Science*, 査読有, 57(2), 2009, 279-284,
- ⑦ A.Pandey and S.Satoh Effects of organic acids on growth and phosphorus utilization in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, *Fisheries Science*, 74(4), 査読有, 2008, 867-874,
- ⑧ P.Chainark, S.Satoh, I.Hirono, T.Aoki, and M.Endo Availability of genetically modified feed ingredient II – Investigations of ingested foreign DNA in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, *Fisheries Science*, 査読有, 74(2), 2008, 380-390,
- ⑨ Md.A.Hossain, A.Pandey, and S.Satoh Effects of organic acids on growth and phosphorus utilization in red sea bream, *Pagrus major*, *Fisheries Science*, 査読有, 73, 2007, 309-1317
- ⑩ Md.A.Hossain, A.Pandey, and S.Satoh Effects of organic acids on growth and phosphorus utilization in red sea bream, *Pagrus major*, *Fisheries Science*, 査読有, 73, 2007, 1309-1317
- ⑪ S.S.Y.Huang, A.N.Oo, D.A.Higgs, C.J.Brauner, and S.Satoh, Effect of dietary canola oil level on the growth performance and fatty acid composition of juvenile red sea bream, *Pagrus major*, *Aquaculture*, 査読有, 271, 2007, 420-431
- ⑫ A.N.Oo, S.Satoh, N.Tsuchida, Effect of replacements of fish meal and fish oil on the growth and dioxin contents of rainbow trout, *Fisheries Science*, 査読有, 73, 2007, 750-759
- ⑬ Md.S.A.Sarker, S.Satoh, and V.Kiron, Inclusion of citric acid and/or amino acid-chelated trace elements in alternate plant protein source diets affects growth and excretion of nitrogen and phosphorus in red sea bream *Pagrus major*, *Aquaculture*, 査読有, 262, 2007, 436-443,

[学会発表] (計 11 件)

- ① 大石隆史, 松井崇憲, 二見洋介, 近藤大輔, 芳賀 穰, 佐藤秀一, ブリ用低魚粉飼料へのタウリンおよびフィターゼの添加効果, 平成 22 年日本水産学会春季大会, 2010 年 3 月, 藤沢
- ② Shuichi Satoh, Imen Hanini, Md. Shah

Alam Sarker, Yutaka Haga, Tsuguaki Ohkuma, Hiroshi Nakayama, Effect of taurine, phytase, and enzyme complex supplementation to low fish meal diet on growth of juvenile red sea bream, 平成 22 年度日本水産学会春季大会, 2010 年 3 月, 藤沢

- ③ Md. Shah Alam Sarker, Feng Huang, Kunihiko Futami, Yutaka Haga, Shuichi Satoh, Toshifumi Wakayama, Koichi Yamaguchi, Taro Akiyama, Maggot meal as a potential ingredient in preactical diets for rainbow trout, 平成 21 年度日本水産学会秋季大会, 2009 年 9 月, 盛岡
- ④ 山本義博, 大石隆史, 佐藤秀一, 近藤大輔, 二見洋介, 芳賀 穰, ブリ用低魚粉飼料へのタウリンの添加効果, 平成 21 年度日本水産学会春季大会, 2009 年 3 月, 東京
- ⑤ M. S. A. Sarker, M. Toyama, J. Miyahara, Y. Yamamoto, Y. Haga, S. Satoh, Estimation of nitrogen and mineral budget in low fishmeal diet for yellowtail, 平成 21 年度日本水産学会春季大会, 2009 年 3 月, 東京
- ⑥ I. Suharman, S. Satoh, Y. Haga, M. Endo, I. Hirono, T. Aoki, Tissue distribution of foreign DNA from genetically-modified soybean meal in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*, 平成 21 年度日本水産学会春季大会, 2009 年 3 月, 東京
- ⑦ 佐藤秀一, 鎌田佳軸, 外山美香, 山本義博, 宮原治郎, 環境負荷低減飼料の開発に関する研究—Ⅷ, 平成 20 年度日本水産学会春季大会, 2008 年 3 月, 清水
- ⑧ I. Suharman, S. Satoh, Y. Haga, H. Kondo, I. Hirono, T. Aoki, Availability of genetically modified soybean meal in common carp diets, 平成 20 年度日本水産学会春季大会, 2008 年 3 月, 清水
- ⑨ 榎野元秀, 長野泰三, 佐藤秀一, 白鳥 勝, ブリ用低魚粉飼料に対するタウリンの添加効果, 平成 20 年度日本水産学会春季大会, 2008 年 3 月, 清水
- ⑩ 鎌田佳軸, 山本義博, 佐藤秀一, 外山美香, 芳賀 穰, 環境負荷低減飼料の開発に関する研究 - IX ブリ用低魚粉飼料への有機酸の添加効果, 平成 20 年度日本水産学会春季大会, 2008 年 3 月, 清水
- ⑪ I. Suharman, S. Satoh, T. Takeuchi, Y. Haga, M. Endo, I. Hirono, T. Aoki, Utilization of genetically modified soybean meal in Nile tilapia diets, 平成 19 年度日本水産学会秋季大会, 2007 年 9 月, 函館

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 秀一 (SATO SHUICHI)
東京海洋大学・海洋科学部・教授
研究者番号：80154053

(2) 研究分担者

竹内 俊郎 (TAKEUCHI TOSHIO)
東京海洋大学・海洋科学部・教授
研究者番号：70092591
吉崎 悟朗 (YOSHIZAKI GORO)
東京海洋大学・海洋科学部・准教授
研究者番号：70281003
芳賀 穰 (HAGA YUTAKA)
東京海洋大学・海洋科学部・助教
研究者番号：00432063